# 中间锦鸡儿 *CiNAC1* 基因促进转基因拟南芥叶片的衰老

岳文冉[*] 岳俊燕[*] 张秀娟 杨杞 韩晓东 王瑞刚 李国婧[**]

（内蒙古农业大学生命科学学院 内蒙古自治区植物逆境生理与分子生物学重点实验室 呼和浩特 010018）

**摘要**：NAC 转录因子家族是植物特有的、最大的转录因子家族之一，参与植物生物胁迫和非生物胁迫应答、激素信号转导、植物次生生长、细胞分裂和植物衰老等多种过程，在植物生长发育过程中起着重要的作用。本实验以中间锦鸡儿 *CiNAC1* 基因的过表达拟南芥纯合体株系为材料，以野生型为对照，对 *CiNAC1* 基因功能进行分析。结果发现，乙烯处理后，*CiNAC1* 基因过表达株系与野生型拟南芥相比，叶片衰老提前、叶绿素含量降低、离子渗透率升高。实时荧光定量 PCR 检测发现，乙烯处理后 *CiNAC1* 基因过表达株系中与叶绿素降解相关的基因 *SGR1*、*SGR2*、*PPH*，以及与衰老相关的基因 *SAG13*、*SAG29*、*ORE1*、*SINA1* 、*VNI2* 和乙烯信号途径中的重要转录因子 *EIN3* 的表达量均明显高于野生型拟南芥。表明 *CiNAC1* 基因在乙烯诱导的叶片衰老过程中发挥重要作用。

**关键词**：NAC 转录因子；*CiNAC1*；乙烯；叶片衰老

**中图分类号**：Q786 **文献标志码**：A

# The CiNAC1 from *Caragana intermedia* Promotes Transgenic *Arabidopsis* Leaf Senescence

YUE Wen-ran YUE Jun-yan ZHANG Xiu-juan YANG Qi HAN Xiao-dong WANG Rui-gang LI Guo-jing*

(College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Inner Mongolia Key Laboratory of Plant Stress Physiology and Molecular Biology , Hohhot 010018, China)

Abstract: NAC transcription factors are one of the largest plant-specific transcription factor families, and play important roles in plant growth and development, such as biotic and abiotic stress response, hormone signaling pathway, plant secondary growth, cell division and plant senescence. In this study, the *CiNAC1* transgenic *Arabidopsis thaliana* homozygous lines was compared with wild type for further functional analyzes. The

**基金项目**：国家自然科学基金（31660065）；内蒙古自治区高等学校科学研究项目（NJZY055）
**作者简介**：岳文冉（1990-），女，在读博士研究生，主要从事植物生物化学与分子生物学研究，E-mail: yuewenran@126.com
**通讯作者：李国婧，博士，教授，博士生导师，主要从事植物生物化学与分子生物学研究，E-mail: liguojing@imau.edu.cn
*并列第一作者

results showed that *CiNAC1* overexpression lines promoted leaf senescence after ethylene treatment，furthermore, the chlorophyll contents of leaves were remarkably lower in transgenic lines than in wild-type, and ion leakage increased in transgenic lines. Quantitative real time PCR analysis showed that the expression level of chlorophyll catabolic genes, *SGR1*, *SGR2* and *PPH* as well as senescence related genes, such as *SAG13*, *SAG29*, *ORE1*, *SINA1*,*VNI2* and EIN3, a key transcription factor in ethylene signaling , was significantly higher in transgenic lines than in wild-type under ethylene treayment. Taken together, these results indicate that *CiNAC1* play a role in ethylene induced leaf senescence in *A. thaliana*.

Key words: NAC transcription factors; *CiNAC1*; Ethylene; Leaf senescence

气态激素乙烯在植物生长发育和逆境胁迫反应中起到重要作用，如种子萌发、开花、叶片衰老和果实成熟等过程[1]。其中乙烯在诱导叶片衰老过程中起到关键作用，EIN2 是乙烯信号的正调控因子如果 *EIN2* 基因突变，即使有高浓度乙烯存在植物黄化苗也将表现出完全的乙烯不敏感表型，在 EIN2 的下游是乙烯信号的转录因子家族 EIN3 以及 EILS 它们在响应乙烯信号之后会起始乙烯相关基因的表达[2]。

NAC 转录因子是植物特有的、具有多种生物功能的转录因子[3]。NAC 家族的命名源于矮牵牛(*Petunia hybrida*)的 NAM(No apical meristem)和拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）的 ATAF1、ATAF2 以及 CUC2(Cup-shape cotyledon)基因[4, 5]。1996 年，Souer 第一次从矮牵牛中克隆得到了 NAC 转录因子[6]。迄今为止，在拟南芥中至少发现 117 个 NAC 转录因子，水稻中有 151 个[7]，大豆[8]和烟草[9]中都至少有 152 个，杨树中至少含有 163 个[10]。研究表明，一些 NAC 转录因子在植物叶片衰老过程中有重要的作用[11, 12]。过表达 *AtNAP* 基因导致植物叶片早衰，而缺失 *AtNAP* 基因的突变体则表现出衰老延缓的现象[13]。拟南芥 *ORE1/AtNAC2/ANAC092* 基因正调控叶片衰老，*ORE1* 基因敲除后延长了拟南芥的寿命[14]，而过表达 *ORE1* 基因则加速了叶片的衰老[15]。在叶片衰老的过程中 *miR164* 的表达量会逐渐减少，但是在 *ein2* 突变体中 *miR164* 的表达量没有发生改变，这表明 EIN2 对 *miR164* 的表达有抑制作用，而 *ORE1* 基因表达量随着 EIN2 调控的叶片衰老上调 [16]。

在叶片衰老的调控机制中，EIN3 作用于 EIN2 的下游，直接抑制 *miR164* 的转录。在衰老的叶片中 *EIN3* 的转录水平和活性显著增加，EIN3 通过抑制 *miR164* 的表达和诱导 *ORE1/AtNAC2* 的积累从而加速叶片的衰老[16]。Qiu 等发现 EIN3 通过与 *NYE1/SGR1*，*NYC1/NOL*，*PAO* 的启动子结合来正调控叶绿素分解代谢基因的表达，从而促进叶绿素的降解，其信号通路如图 1 所示。此外，ORE1 通过促进 *ACS2* 的转录来正反馈调节乙烯生物合成

和信号通路[17]

Kim 等发现[18]，拟南芥 6 个衰老相关的 NAC 转录因子(*ANAC019, AtNAP, ANAC047, ANAC055, ORS1, ORE1*)是 EIN2 调控的下游基因。而 EIN3 是 EIN2 信号转导途径下游的一个信号分子，通过激活 *ORE1* 和 *AtNAP* 的表达从而正调控叶片的衰老。这些数据提供了对 EIN2 介导的衰老信号通路的了解，EIN2 通过 EIN3 和衰老相关的 NAC 转录因子的基因调控网络来协调叶片衰老基因的表达。

本研究在前期已经构建好的中间锦鸡儿干旱胁迫转录组文库中找到一条 *CiNAC1* 基因的 cDNA 全长序列[19]，荧光定量 PCR 结果表明其表达受乙烯诱导，推测其与中间锦鸡儿响应乙烯信号的机制有关。我们利用经表达量检测和 RT-PCR 验证过的中间锦鸡儿 *CiNAC1* 基因的过表达纯合体株系(OE-42、OE-60 和 OE-66)[19]，以野生型为对照进行了乙烯诱导的衰老实验，进一步揭示了该基因在植物叶片衰老中的功能。

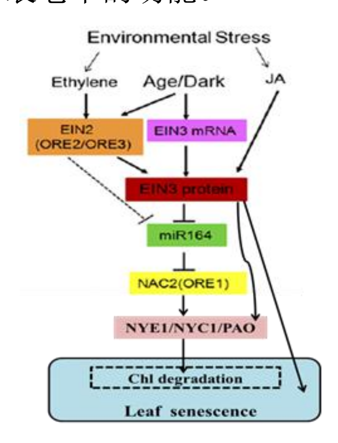



图 1 EIN3-ORE1-CCGs 在调节乙烯介导的叶绿素降解中的通路（改绘自 Li ,2013 和 Qiu,2015）[20]

Fig.1 A working model of the EIN3-ORE1-CCGs in regulation of ethylene-mediated chl degradation(adopted from Li and Peng ,2013;Qiu and Li,2015) [20]

## 1.材料和方法

### 1.1 植物材料

本实验所用中间锦鸡儿(*Caragana intermedia*)种子采自内蒙古四子王旗，拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)野生型(Col-0)由本实验保存。

### 1.2 材料处理

选取一月苗龄、长势一致中间锦鸡儿，用 5 mM 乙烯利水溶液加 0.1% Tween 喷洒植物，分别在 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48 h 后取样，用于基因表达检测。

乙烯诱导叶片衰老表型检测选用的是野生型和 3 个 *CiNAC1* 过表达拟南芥 $T_4$ 代株系(OE-42、OE-60 和 OE-66)。将 1M 乙烯利溶液用 5mM $Na_2HPO_3$ 缓冲液稀释至终浓度为 100 μL/L，加到玻璃干燥皿底部。剪取生长在 23℃长日照(16 h 光照/8 h 黑暗)温室中 4 周龄拟南

芥幼苗的第三和第四片莲座叶，放入铺有水浸湿的两层滤纸的培养皿中，将培养皿放置在密封的加有乙烯利溶液的玻璃干燥皿中。温室中处理 48~60 h 后，将叶片取出拍照并进行叶绿素含量和离子渗透率的检测。

### 1.3 总 RNA 提取与反转录

利用 TRIzol 法提取中间锦鸡儿总 RNA。用超微量核酸蛋白测定仪(美国 Quawell-超微量分光光度计 Q5000)对 RNA 进行浓度测定，琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量，选取质量好的 RNA 去 DNA 后，进行 cDNA 第一链的合成(TaKaRa, Cat# D2640A)，具体操作按试剂盒说明书进行。

### 1.4 叶绿素含量检测

叶绿素含量的测定使用丙酮-乙醇混合液法。称取 0.1 g 用 1.2 方法处理后的叶片，将叶片剪成细丝后浸泡在 10 mL 丙酮乙醇等体积混合液中，在温室黑暗处理 14 h 左右，用紫外分光光度计检测 $OD_{645}$，$OD_{652}$，$OD_{663}$ 的光密度，每个光密度值取三个平行样品，最后取平均值。计算公式：(1)叶绿素总含量(mg/g)=$(20.2*OD_{645}+8.02*OD_{663})*V/1000*W$；(2)叶绿素总含量(mg/g)=$V*OD_{652}/34.5*W$；其中 V：提取液体积；W：叶片鲜重。根据计算公式计算出叶绿素含量。

### 1.5 离子渗透率检测

离子渗透率含量测定：称取 0.1 g 用 1.2 方法处理后的叶片，将其浸入 10 mL 去离子水中，真空处理 20 min，在玻璃干燥器中静置 1 h 后取出，检测电导率记为 $C_1$；将叶片煮沸 20 min，待去离子水冷却至室温后，检测电导率记为 $C_2$，计算相对电导率=$C_1/C_2$，进行三次重复实验。

### 1.6 转 *CiNAC1* 基因拟南芥中衰老相关基因表达分析

采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)技术进行基因表达分析。根据 *CiNAC1* 基因 cDNA 全长序列设计引物 q*CiNAC1*-F(5'-TCAAAACCAAACCAACCCAATC-3')和 q*CiNAC1*-R(5'-TCGGTGCTCCTCCAAATGTAG-3')，qRT-PCR 采用 *SYBR* Green Ⅰ荧光染料法检测，反应体系为 10 μL SYBR Primix Ex *Taq*™，引物各 0.4 μL(10 μM)，稀释的 cDNA 模板 5 μL，DEPC 水 4.2 μL，总体系 20 μL。PCR 反应程序为：95℃预变性 1 min；95℃变性 5 s，60℃退火 30 s，72℃延伸 10 s，40 个循环；95℃补充延伸 1 min。拟南芥内参引物：qAtEF1α-F (5'-AGAAGGGTGCCAAATGATGAG-3')，qAtEF1α-R (5'-GGAGGGAGAGAGAAAGTCACAGA-3')，实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 *CiNAC1* 基因的表达受到乙烯诱导

为了研究 *CiNAC1* 基因的功能，采用 qRT-PCR 检测了乙烯处理后 *CiNAC1* 基因的表达量变化。如图 2 所示，随着处理时间的增加 *CiNAC1* 基因的表达量逐渐升高，在处理 24 h 达到最高，为对照的 3.3 倍，而 48 h 后表达量降低，说明 *CiNAC1* 基因受到乙烯的诱导。

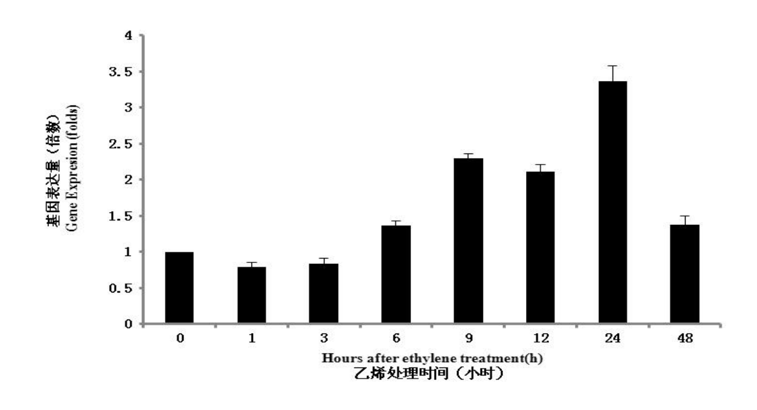



图 2　qRT-PCR 检测乙烯处理下 *CiNAC1* 基因的表达

Fig. 2　The expression of *CiNAC1*under ethylene treatment by qRT-PCR

## 2.2 过表达 *CiNAC1* 促进拟南芥叶片衰老

观察野生型拟南芥和转 *CiNAC1* 基因拟南芥 $T_3$ 代植株生长情况，在其生长 6 周大小时对整盘植株和单株不同发育时期的叶片进行拍照。从图 3 可以清楚地看到过表达株系明显比野生型拟南芥叶片提前衰老。

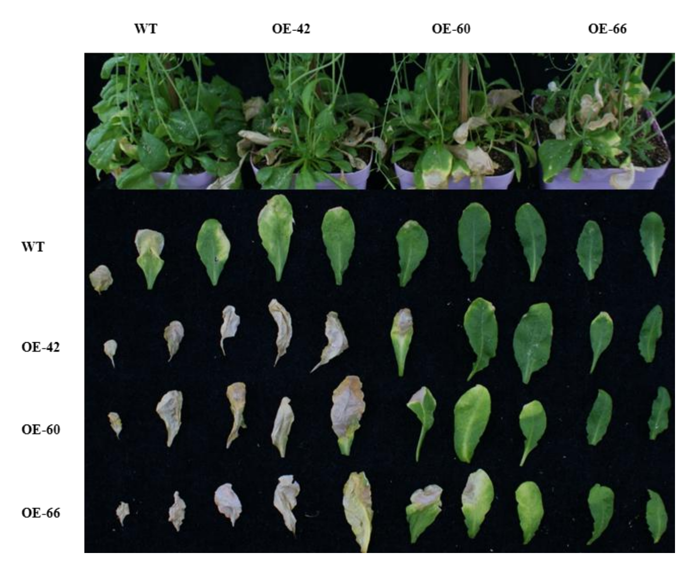



图 3　野生型和转 *CiNAC1* 基因拟南芥株系的衰老表型

Fig.3　The senescence phenotypes of wt (wild type）and transgenic *CiNAC1* Arabidopsis plant

## 2.3 乙烯、MeJA、SA 和黑暗条件诱导下叶片衰老变化检测

由于 *CiNAC1* 基因的过表达纯合体株系叶片有提前衰老的现象，于是检测了乙烯、MeJA、SA 和黑暗条件诱导下叶片衰老变化。选取 3~4 周龄野生型和 *CiNAC1* 基因的过表达纯合体株

系的第三，四片叶片，用 100 μL/L 乙烯溶液处理约 48-60 h 后取出观察，发现乙烯处理以后过表达株系的叶片明显比野生型的变黄（图 4）。进一步的研究发现，过表达株系的叶片只有在乙烯诱导下衰老早于野生型，在 MeJA、SA 和黑暗诱导时没有提前衰老的现象。因此，推测 *CiNAC1* 基因促进叶片衰老的信号通路中受到乙烯诱导。

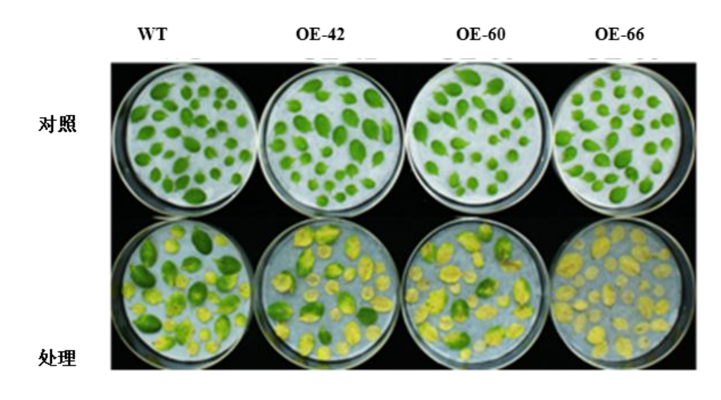



图 4　乙烯处理诱导野生型和转 *CiNAC1* 基因拟南芥叶片衰老

Fig.4　Ethylene induced leaf Senescence of 4-weeks-old wt and transgenic *CiNAC1* Arabidopsis plants

2.4 乙烯处理后拟南芥叶绿素含量和离子渗透率检测

为进一步验证乙烯处理后促进了转基因株系的叶片衰老，我们检测了乙烯处理后野生型和转 *CiNAC1* 基因拟南芥叶片叶绿素含量和离子渗透率。叶绿素含量检测结果如图 5A 所示，未处理之前，株系 OE-66 叶绿素含量明显低于野生型拟南芥，乙烯处理后，过表达株系叶绿素含量明显低于野生型拟南芥，且均达到了极显著水平。

离子渗透率结果如图 5B 所示，过表达株系的离子渗透率高于野生型，过表达株系 OE-42 的离子渗透率与野生型离子渗透率相比达到了显著水平，过表达株系 OE-66 与野生型相比达到了极显著水平。

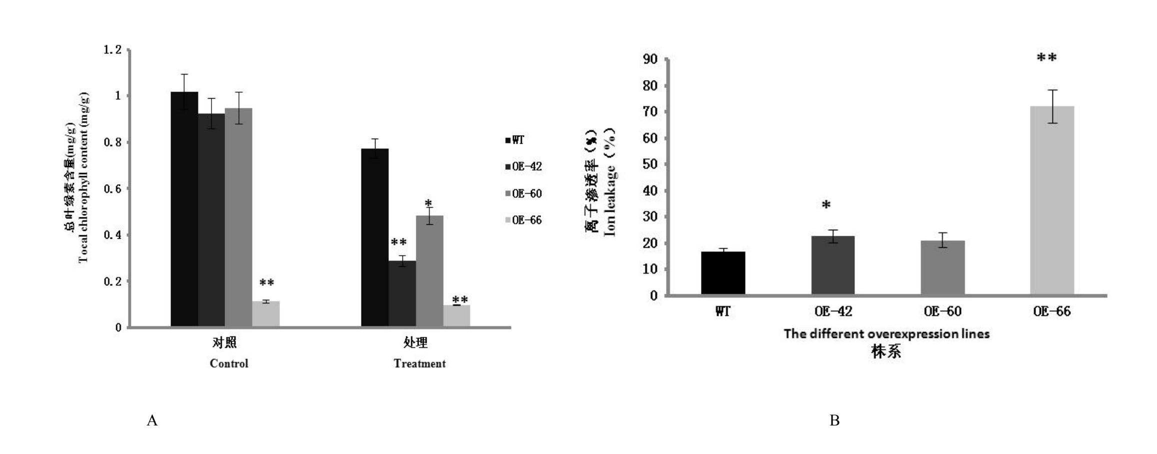



Fig.5　Chlorophyll contents and membrane ion leakage of wt and transgenic *CiNAC1* Arabidopsis plants

2.5 叶绿素降解相关基因和衰老相关基因表达量检测

由于前面实验已经观察到 *CiNAC1* 基因能促进叶片衰老，且在乙烯诱导下转 *CiNAC1* 基因拟南芥叶片明显比野生型变黄。为了探究 *CiNAC1* 基因在促进叶片衰老过程中如何起作用，用 qRT-PCR 检测了叶绿素降解相关基因和衰老相关基因以及乙烯响应相关基因的表达量。结果如图 6 所示，乙烯诱导后转 *CiNAC1* 基因拟南芥株系中叶绿素降解相关基因 *SGR1*、*SGR2*、*PPH* 及衰老相关的基因如 *SAG13*、*SAG29*、*ORE1*、*SINA1*、*VNI2* 的表达量明显高于野生型。而转基因植物中乙烯信号途径中关键的转录因子 *EIN3* 的表达量也明显高于野生型。说明 *CiNAC1* 基因能够促进叶绿素降解相关基因和衰老相关基因的表达，从而促进拟南芥叶片提前衰老，是与 *EIN3* 调控的乙烯信号途径有关。

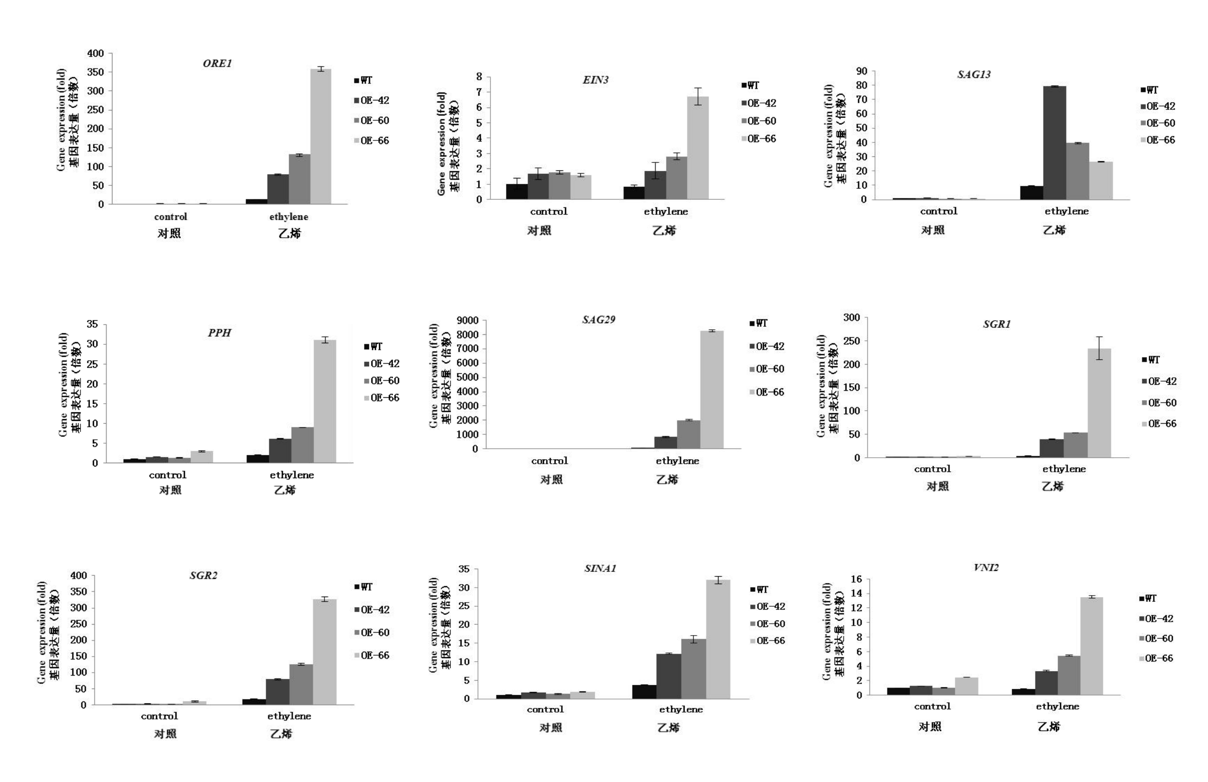



图 6　*CiNAC1* 转基因株系中衰老相关基因和叶绿素降解相关基因表达量检测

Fig.6　Expression of leaf senescence related genes and chlorophyll catabolic genes in transgenic *CiNAC1* Arabidopsis plants

## 3 讨论

岳俊燕等从中间锦鸡儿中克隆得到一个 NAC 转录因子编码基因，经过 Blast 比对发现，它与拟南芥 *NAC1* 一致性最高为 63%，与 *AtNAC2* 的一致性为 52%，因此将其命名为 *CiNAC1*。研究发现，过表达 *CiNAC1* 转基因拟南芥侧根数目比野生型多，这一结果与拟南芥 *NAC1* 基因的表型一致[19]。后期观察比较野生型拟南芥和转 *CiNAC1* 基因拟南芥 $T_3$ 代植株生长情况，

发现过表达植株叶片明显比野生型拟南芥叶片提前衰老（图 3）。研究发现乙烯能抑制特异降解转录因子 *NAC2* 的小 RNA *miR164* 基因的表达，从而调节叶片衰老进程[16]，因此我们检测了乙烯处理以后 *CiNAC1* 基因的表达量变化，发现 *CiNAC1* 基因受到乙烯的诱导，因此我们推测 *CiNAC1* 基因促进拟南芥叶片提前衰老，可能与乙烯信号有关。

叶片衰老既受植物内发育信号调控，又与环境因素（包括生物胁迫和非生物胁迫）密切相关，黑暗能够促进植物叶片衰老，植物激素乙烯、MeJA、SA 也参与调控叶片衰老过程[20]，为了进一步验证 *CiNAC1* 基因促进拟南芥叶片提前衰老的因素，我们在乙烯、MeJA、SA 和黑暗条件诱导叶片衰老的过程中发现（图 4），只有在乙烯诱导下可以观察到过表达株系的叶片衰老早于野生型，在 MeJA、SA 和黑暗诱导条件下没有提前衰老的现象。因此，推测 *CiNAC1* 基因促进叶片衰老的信号通路中受到乙烯诱导，MeJA、SA 和黑暗条件均不能诱导 *CiNAC1* 基因加速叶片衰老。

实验中发现乙烯能诱导 *CiNAC1* 基因促进叶片衰老，目前尚没有研究报道 *NAC1* 基因具有促进叶片衰老的功能。但已经有研究证明过表达 *AtNAC2/ORE1* 能够参与乙烯响应，诱导许多衰老相关基因表达，从而促进拟南芥叶片衰老 [15]。EIN3-ORE1-CCGs 在调节乙烯介导的叶绿素降解通路和调节方式中起重要作用[16, 17]。已有研究证明在乙烯信号途径中 EIN3 是一个主要的调控转录因子[21]，在衰老叶片中 *EIN3* 的表达量升高[16]。Qiu 等发现 EIN3 通过与 *NYE1/SGR1*，*NYC1/NOL*，*PAO* 的启动子结合来正调控叶绿素分解代谢基因的表达，从而促进叶绿素的降解[17]。实验中发现乙烯处理后过表达株系中 *EIN3* 和 *ORE1* 基因的表达量明显高于野生型，说明过表达 *CiNAC1* 基因后，是通过上调 *EIN3* 和 *ORE1* 基因的表达从而促进叶片衰老。检测乙烯诱导后野生型拟南芥和 *CiNAC1* 转基因株系中叶绿素降解相关基因的表达，发现转基因植株叶绿素降解相关基因 *PPH*、*SGR1* 和 *SGR2* 的表达量明显高于野生型。以上结果说明，EIN3-ORE1-CCGs 信号途径中的基因在乙烯诱导后的过表达转基因株系中表达量均高于野生型，过表达 *CiNAC1* 基因后促进拟南芥叶片衰老很可能是通过这条途径完成的。同时检测了 *AtNAC2/ORE1* 下游衰老相关基因的表达，发现转基因植株中 *AtNAC2/ORE1* 下游衰老相关基因 *SINA1*、*SAG29*、*SAG13* 和 *VIN2* 的表达量明显高于野生型。因此，我们推断 *CiNAC1* 基因可能通过 EIN3-ORE1-CCGs 信号途径调节乙烯诱导的叶片衰老过程。

**参考文献：**


[1] Bleecker A B and Kende H. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. Annual Review of Cell & Developmental Biology, 2000, 16(1): 1-18.

[2] 张存立, 郭红卫. 乙烯信号转导通路研究. 自然杂志, 2012, 34(4): 219-228.

ZHANG C L, GUO H W. Study of Ethylene signal Transduction Pathway[J]. Chinese Journal of Nature, 2012, **34**(4):

219-228.
[3] 陈娜，蒋晶，曹必好,等. 植物 NAC 转录因子功能研究新进展. 分子植物育种, 2015, 13(6): 1407-1414.
CHEN N, JIANG J, CAO B H, et al. The Latset progress on plant NAC transcription factors function[J]. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(6): 1407-1414.
[4] 彭辉，于兴旺，成慧颖，等. 植物 NAC 转录因子家族研究概况. 植物学报, 2010, 45(2): 236-248.
PENG H, YU X W, CHENG H Y, et al. A Survey of Functional Studies of the Plant-specific NAC Transcription Factor Family[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, 45(2): 236-248.
[5] Aida M, Ishida T, Fukaki H, et al. Genes involved in organ separation in Arabidopsis: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. Plant Cell, 1997, 9(6): 841-857.
[6] Souer E, Van H A, Kloos D, et al. The no apical meristem gene of Petunia is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. Cell, 1996, 85(2): 159.
[7] Nuruzzaman M, Manimekalai R, Sharoni A M, et al. Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice. Gene, 2010, 465(1–2): 30-44.
[8] Le D T, Nishiyama R, Watanabe Y, et al. Genome-Wide Survey and Expression Analysis of the Plant-Specific NAC Transcription Factor Family in Soybean During Development and Dehydration Stress. DNA Res, 2011, 18(4): 263.
[9] Hu R B, Qi G, Kong Y Z, et al. Comprehensive analysis of NAC domain transcription factor gene family in Populus trichocarpa. BMC Plant Biol, 2010, 10(1): 145.
[10] Rushton P J, Bokowiec M T, Han S, et al. Tobacco Transcription Factors: Novel Insights into Transcriptional Regulation in the Solanaceae. Plant Physiol, 2008, 147(1): 280-295.
[11] Buchananwollaston V, Page T, Harrison E, et al. Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in Arabidopsis. Plant Journal, 2005, 42(4): 567–585.
[12] Guo Y, Cai Z, and Gan S. Transcriptome of Arabidopsis leaf senescence. Plant Cell & Environment, 2004, 27(5): 521-549.
[13] Guo Y and Gan S. AtNAP, a NAC family transcription factor, has an important role in leaf senescence. Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 2006, 46(4): 601–612.
[14] Jin H K, Woo H R, Kim J, et al. Trifurcate Feed-Forward Regulation of Age-Dependent Cell Death Involving miR164 in Arabidopsis. Science, 2009, 323(5917): 1053-1057.
[15] Balazadeh S, Siddiqui H, Allu A D, et al. A gene regulatory network controlled by the NAC transcription factor ANAC092/AtNAC2/ORE1 during salt-promoted senescence. Plant Journal, 2010, 62(2): 250.
[16] Li Z, Peng J, Wen X, et al. ETHYLENE-INSENSITIVE3 Is a Senescence-Associated Gene That Accelerates Age-Dependent Leaf Senescence by Directly Repressing miR164 Transcription in Arabidopsis. Plant Cell, 2013, 25(9): 3311.
[17] Qiu K, Li Z, Yang Z, et al. EIN3 and ORE1 Accelerate Degreening during Ethylene-Mediated Leaf Senescence by Directly Activating Chlorophyll Catabolic Genes in Arabidopsis. PLoS Genet, 2015, 11(7): e1005399.
[18] Kim H J, Hong S H, You W K, et al. Gene regulatory cascade of senescence-associated NAC transcription factors activated by ETHYLENE-INSENSITIVE2-mediated leaf senescence signalling in Arabidopsis. J Exp Bot, 2014, 65(14): 4023-4036.
[19] 岳俊燕，岳文冉，杨杞，等. 中间锦鸡儿转录因子基因 CiNAC1 的克隆及功能分析. 西北植物学报, 2016, 36(7): 1285-1293.
YUE J Y, YUE W R, YANG Q, et al. Cloning and Function Analysis of CiNAC1 from Caragana intermedia. Acta Botanica Boreal-Occidentalia. Sinica. 2016, 36(7): 1285-1293.
[20] Zhang H and Zhou C. Signal transduction in leaf senescence. Plant Mol Biol, 2013, 82(6): 539-545.
[21] Yanagisawa S, Yoo S D, and Sheen J. Differential regulation of EIN3 stability by glucose and ethylene signalling in plants. Nature, 2003, 425(6957): 521-525.